

DOI: 10.13376/j.cbls/2019063

文章编号: 1004-0374(2019)06-0534-10

tRNA 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶的生物学功能

李 静^{1,2}, 刘如娟^{1,2*}, 王恩多^{1,2,3*}

(1 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所, 分子细胞科学卓越创新中心, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031; 2 中国科学院大学, 北京 100864; 3 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

摘 要: 转移核糖核酸 (transfer RNA, tRNA) 上存在着大量的转录后修饰, 对 tRNA 发挥其生物学功能具有重要作用。甲基化修饰作为 tRNA 修饰中最广泛存在的一种, 可以发生在核苷酸的碱基或者 2'-O-核糖 (2'-O-甲基化修饰) 上。tRNA 2'-O-甲基化修饰广泛存在于古细菌、原核生物和真核生物中, 并且在 tRNA 第 4 位、6 位、18 位、32 位、34 位、39 位、44 位、54 位和 56 位均被鉴定到。研究表明, tRNA 2'-O-甲基化修饰参与调控 tRNA 的折叠和成熟、影响 tRNA 稳定性及反密码子与 mRNA 密码子配对的精确性, 并与细胞生长、压力应激和免疫调控密切相关。人细胞质 tRNA 2'-O-甲基化修饰缺陷常常与疾病密切相关, 并且潜在的 tRNA 2'-O-甲基修饰酶已经成为药物研发的新靶点。开展 tRNA 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶的研究将丰富人们对 tRNA 2'-O-甲基化修饰的生物学功能的认识, 并为探索 tRNA 2'-O-甲基修饰酶在人类疾病中的致病机制打下基础。现将简要介绍已报道的 tRNA 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶的生物学功能。

关键词: tRNA; 转录后修饰; 2'-O-甲基化修饰; 2'-O-甲基修饰酶; 生物学功能

中图分类号: Q522; Q527

文献标志码: A

Biological functions of tRNA 2'-O-methylations and their modifying enzymes

LI Jing^{1,2}, LIU Ru-Juan^{1,2*}, WANG En-Duo^{1,2,3*}

(1 State Key Laboratory of Molecular Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Science, Shanghai 200031, China;

2 University of Chinese Academy of Science, Beijing 100864, China;

3 School of Life Science and Technology, Shanghai Tech University, Shanghai 201210, China)

Abstract: Transfer RNAs (tRNAs) contain a variety of post-transcriptional modifications, which play critical roles in the biological functions of tRNAs. Methylation is one of the most frequent tRNA modifications, locating on the base group or 2'-O-ribose group of nucleotide. 2'-O-methylations in tRNAs occur in archaea, prokaryotes and eukaryotes, and are identified at position 4, 6, 18, 32, 34, 39, 44, 54 and 56. Accumulating evidence has shown that 2'-O-methylations of tRNAs impact tRNA folding, maturation, stability and the accuracy of the interaction between anticodon and mRNA codon. Moreover, 2'-O-methylations in tRNAs are closely related to cell growth, cellular stress response and immunity. Abnormal pattern of 2'-O-methylations in tRNAs is often correlated with human disease, and the putative tRNA 2'-O-methyltransferase has become a new target for drug development. Studies of tRNA 2'-O-methylations and the corresponding modifying enzymes will increase our current understandings of their biological functions, and lay the foundation for exploring the pathogenic mechanisms of the putative tRNA 2'-O-methyltransferases in human diseases. Here, we briefly summarize the latest reports on the biological functions of tRNA 2'-O-methylations and their corresponding modifying enzymes.

Key words: tRNA; post-transcriptional modifications; 2'-O-methylation; 2'-O-methyltransferase; biological functions

收稿日期: 2019-01-29; 修回日期: 2019-03-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(91440204, 31570792, 31870811, 31770842)

*通信作者: E-mail: liurj@sibcb.ac.cn (刘如娟); edwang@sibcb.ac.cn (王恩多)

tRNA 作为氨基酸与信使核糖核酸 (message RNA, mRNA) 之间的“接头分子”, 是蛋白质生物合成的重要大分子。tRNA 上的核苷酸存在着广泛的转录后修饰。截至 2018 年, 已经鉴定出超过 100 种 tRNA 核苷酸修饰形式^[1-2]。虽然早在 50 多年前, 人们就已鉴定出 tRNA 带有修饰核苷酸^[3], 但编码修饰酶的基因鉴定和相应修饰酶的确证相对滞后。近年来, 随着技术上的不断创新, 越来越多 tRNA 修饰酶被鉴定出来。tRNA 的修饰影响 tRNA 的折叠、成熟和稳定性, 并与反密码子和 mRNA 上密码子配对和翻译阅读框在核糖体上的解码密切相关^[4-6]。近期研究表明, tRNA 的转录后修饰还影响细胞生长和代谢、压力应激和免疫调控等^[7-9]。此外, 人基因组中某些编码 tRNA 修饰酶的基因缺失或突变还会导致疾病的发生, 如智力发育障碍^[10]、2 型糖尿病^[11]、男性不育症^[12]和线粒体疾病^[13-15]等。

甲基化修饰作为 tRNA 修饰中最广泛存在的一种, 发生在核苷酸的碱基或者核糖上。核糖上的甲基化修饰发生在 2'-OH 位置, 形成 2'-O-甲基化修饰 (Nm, N 代表 A、G、C 和 U) (图 1), 而且这种甲基化修饰只存在于核糖核酸。tRNA 2'-O-甲基化修饰广泛存在于古细菌、原核生物和真核生物中。近年来, 研究人员在古细菌、大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 和酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. cerevisiae*) 中已经鉴定出一些 tRNA 2'-O-甲基修饰酶^[16-17], 它们均以腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl-L-methionine, SAM) 做为甲基供体。高等真核生物只发现在细胞质的 tRNA 上存在 2'-O-甲基化修饰, 但相应的 2'-O-甲基修饰酶的催化机理和底物识别机制研究较少。

按照催化结构域的不同, 依赖 SAM 的甲基转移酶分为五类 (I、II、III、IV 和 V)^[18], 目前鉴定到的 tRNA 2'-O-甲基转移酶属于 I 类或 IV 类。I 类依赖 SAM 的甲基转移酶结构上包含由六个平行的 β

折叠与两对 α 螺旋形成的 β - α - β - α - β 的 Rossmann 折叠, 因此也被称为 Rossmann 折叠甲基转移酶 (Rossmann-fold methyltransferase, RFM); IV 类依赖 SAM 的甲基转移酶具有保守的 SPOUT (SpoU/TrmD) 结构域, 即一种特殊的打结结构, 也被称为 SPOUT 甲基转移酶。按照底物识别方式的不同, tRNA 2'-O-甲基转移酶可以分为两类: 一类是需要甲基转移酶去识别底物; 另一类则需要由一段 C/D box RNA 介导的核酸-蛋白质复合物 (RNA-protein complexes, RNPs) 来识别, 而目前报道的 C/D box RNA 介导 RNPs 催化 tRNA 2'-O-甲基化修饰只存在于古细菌中^[19-20]。古细菌的 RNPs 是由核仁纤维蛋白质 fibrillarlin、核糖体蛋白质 L7Ae 和 Nop5p^[21] 组成。结构信息显示, 负责催化的 fibrillarlin 具有 Rossmann 折叠, 属于 I 类甲基转移酶^[22-23]。

相对于古细菌和原核生物, 真核生物 tRNA 2'-O-甲基转移酶的底物识别机制和催化机制研究较少, 但真核生物 tRNA 2'-O-甲基化修饰对 tRNA 的加工成熟、细胞生长代谢和免疫调控具有重要作用^[24-26], 并且人细胞质 tRNA 潜在的 2'-O-甲基转移酶与疾病的发生密切相关^[27-30]。因此, 研究不同物种 tRNA 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶, 对了解物种的进化及探究 tRNA 2'-O-甲基修饰酶与疾病之间的关系至关重要。

1 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶的生物学功能

tRNA 2'-O-甲基化修饰广泛存在于古细菌、原核生物和真核生物中, 并且在 tRNA 第 4 位、6 位、18 位、32 位、34 位、39 位、44 位、54 位和 56 位被鉴定到。第 4 位和第 6 位核苷酸均位于 tRNA 的接受茎区域, 通常发生在该区域的核苷酸修饰较少。不同物种 tRNA 2'-O-甲基化修饰位点存在差异。第 4 位、44 位和 54 位的 2'-O-甲基化修饰只存在于真核生物 tRNA 上。第 6 位、39 位和 56 位的 2'-O-甲

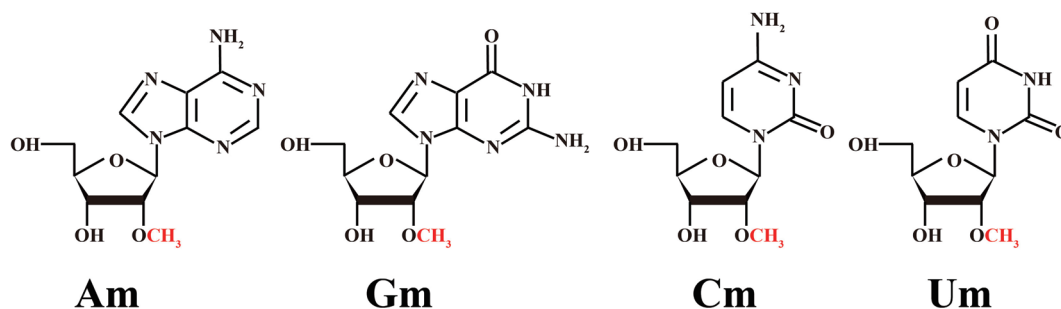


图1 四种核苷(Am、Gm、Cm和Um)的分子结构式

基化修饰则只存在于古细菌 tRNA 上。tRNA 第 18 位、32 位和 34 位的 2'-O- 甲基化修饰保守存在于古细菌、原核生物和真核生物中 (表 1)。现按照 tRNA 2'-O- 甲基化修饰位点介绍不同物种对应的修饰酶和生物学功能 (图 2)。

1.1 第4位

在酿酒酵母中, Trm13 负责催化 tRNA^{Gly}(GCC)、tRNA^{His} 和 tRNA^{Pro} 第 4 位的 2'-O- 甲基化修饰^[31]。Trm13 同源蛋白质序列分析表明 Trm13 在高等真核

表1 不同物种tRNA的2'-O-甲基化修饰

tRNA 2'-O-甲基化修饰位点	物种
第4位	真核生物
第6位	古细菌
第18位	古细菌、原核生物和真核生物
第32位	古细菌、原核生物和真核生物
第34位	古细菌、原核生物和真核生物
第39位	古细菌
第44位	真核生物
第54位	真核生物
第56位	古细菌

生物中保守存在。在盐或脱落酸刺激的情况下, 水稻 (*Oryza sativa*, *O. sativa*) 幼苗中的 Am 修饰含量明显上升^[32]。而水稻 Trm13 体外可以独立催化 tRNA^{Gly}(GCC) 的 Am 修饰, 并且 *trm13* 高表达的水稻株具有更长的根, 更能耐受盐刺激^[32]。生物信息学预测 Trm13 属于 I 类甲基转移酶^[33], 但目前 Trm13 的晶体结构、催化机制和生物学功能还不清楚。

1.2 第6位

将体外转录的沃氏嗜盐富饶菌 (*Haloferox volcanii*, *H. volcanii*) 的 tRNA^{Ile}(GAU) 与激烈火球菌 (*Pyrococcus furiosus*, *P. furiosus*) 菌体超声破碎的上清孵育后, 研究人员检测出 tRNA^{Ile} 的第 6 位存在 2'-O- 甲基化修饰, 提示激烈火球菌中存在 tRNA 第 6 位的 2'-O- 甲基修饰酶^[34]。

1.3 第18位

Gm18 保守存在于古细菌、原核生物和真核生物特定的 tRNA 上。部分原核生物和古细菌 tRNA 的 Gm18 修饰是由 SPOUT 家族的 TrmH 负责催化完成。依据其对底物的专一性, TrmH 可分为两类:

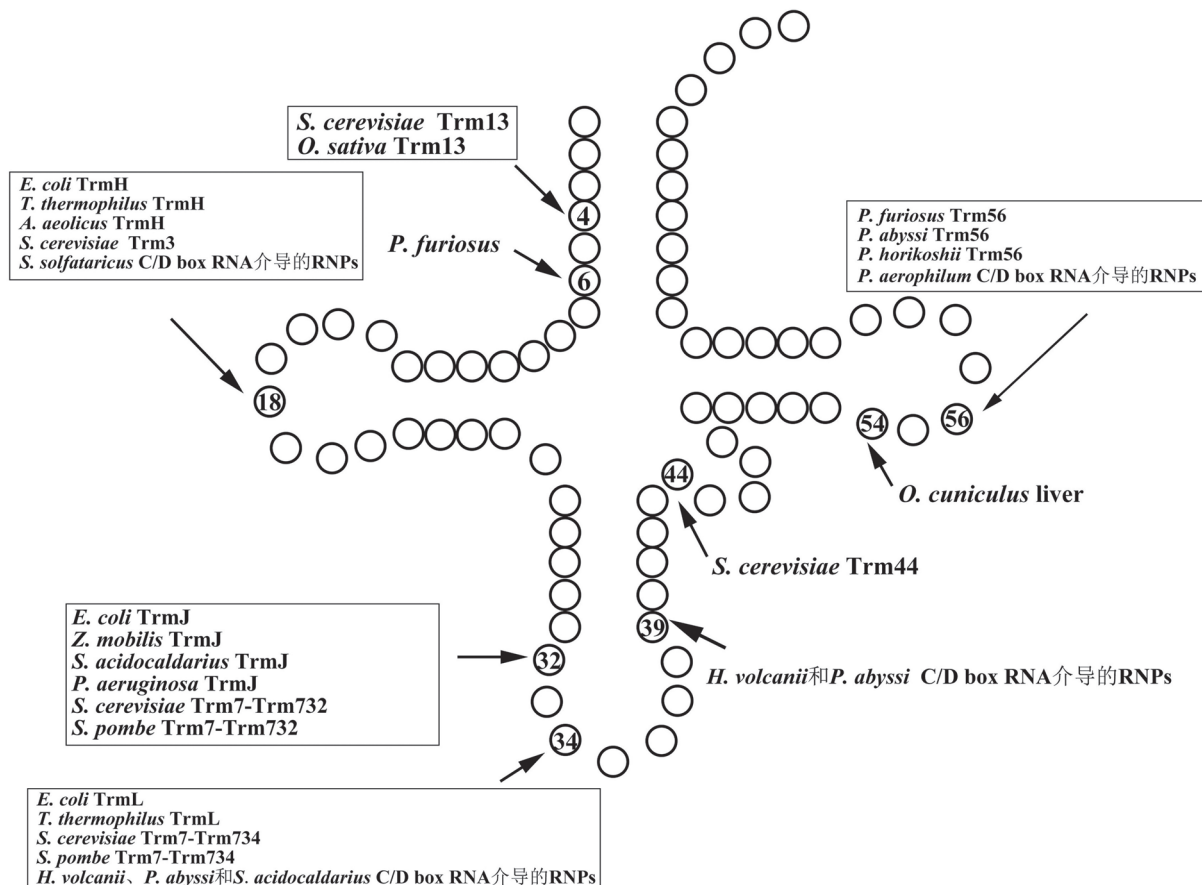


图2 tRNA 2'-O-甲基化修饰分布和相应的修饰酶

I类如嗜热栖热菌 (*Thermus thermophilus*, *T. thermophilus*) 中的 TrmH, 可以催化细胞质中所有 tRNA 2'-O-甲基化修饰^[35-40]; II类如风产液菌 (*Aquifex aeolicus*, *A. aeolicus*)^[41-42] 和大肠杆菌^[43] 中的 TrmH, 只催化特定 tRNA 2'-O-甲基化修饰。而在硫矿硫化叶菌 (*Sulfolobus solfataricus*, *S. solfataricus*) 中, tRNA^{Gln}(CUG) 的 Gm18 修饰是由 C/D box RNA : 小 RNA11 (small RNA 11, sR11) 介导的 RNPs 催化完成^[44]。TrmH 在真核生物中的同源物是 Trm3, 其在酿酒酵母中的 tRNA 底物已被鉴定, 但晶体结构和潜在功能仍需研究^[45]。

使用营养丰富的 Luria-Bertani (LB) 培养基和培养欠缺的葡萄糖-3-(N-吗啡啉)丙磺酸 (3-(N-morpholino)-propane-sulfonic acid, MOPS) 培养基, 在不同温度 (37 °C 或 42 °C) 下培养 *trmh* 缺失的大肠杆菌, 均未见明显的生长缺陷^[43]。然而, 在 40 °C 培养时, *trmh* 缺失的大肠杆菌在营养欠缺的葡萄糖-MOPS 培养基中生长速率下降^[46]; 在营养丰富的 MOPS 培养基中以不同温度条件培养 (30 °C、37 °C、40 °C 或 42 °C) 时, *trmh* 缺失的大肠杆菌也均表现生长速率下降, 表明 Gm18 对大肠杆菌的生长具有重要作用^[46]。在营养丰富的 MOPS 和葡萄糖-MOPS 培养基中, 在不同温度下 (30 °C、37 °C、40 °C 或 42 °C) 培养时, *trmh* 和 *trub* (负责 tRNA 第 55 位 Ψ 修饰的基因) 双缺失的大肠杆菌均表现出生长速度减缓, 提示 Gm18 和 Ψ55 这两个修饰协同稳定 tRNA 的倒“L”型的三级结构^[46]。而对于嗜热栖热菌, Gm18 修饰有利于增加 tRNA 的热稳定性^[47-48]。

Gm18 除了影响 tRNA 的三级结构和热稳定性以外, 还被报道参与细胞免疫应答与免疫调控。一些病原菌, 如洛菲不动杆菌 (*Acinetobacter lwoffii*, *A. lwoffii*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 中内源的 tRNA 可以激活免疫细胞的应答反应, 产生相关免疫因子^[26]。而来自嗜热栖热菌和大肠杆菌中的 tRNA 带有 Gm18 修饰, 使这两类 tRNA 逃脱免疫细胞的应答反应^[26,49]。

trmh 在人基因组中的同源物是编码反式激活应答 RNA 结合蛋白质 1 (*trans-activation response RNA binding protein 1*, TARBP1) 的基因, 而 TARBP1 是细胞中双链 RNA 结合蛋白质家族成员之一。反式激活蛋白质 (*trans-activator*, Tat) 对人类免疫缺陷病毒 I 型 (human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) 基因表达的激活依赖于位于转录起始位点下游的反

式激活 RNA 调节元件 (*trans-activation response element*, TAR)。在 20 世纪 90 年代时, 研究人员就鉴定到 TARBP1 和 RNA 聚合酶 II 竞争性结合 HIV-1 的 TAR 区域, 说明 TARBP1 参与细胞内 HIV-1 感染后的 RNA 转录调控^[50-52]。近期研究发现, FTSJ3 与 TARBP1 结合后, 能催化 HIV-1 的 RNA 2'-O-甲基化修饰, 从而使 HIV-1 逃逸免疫细胞的应答反应^[29]。目前, TARBP1 已成为控制 HIV-1 感染的新靶点^[53-55]。TARBP1 催化结构域的晶体结构显示 TARBP1 属于 SPOUT 甲基转移酶家族, 但目前 TARBP1 的 RNA 底物和催化机制未知^[56]。此外, TARBP1 是 RNA 介导的沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 的一员^[57], 并与丙型肝炎病毒的感染^[58]、肝癌^[59] 和非小细胞肺癌^[28] 的发生密切相关。

1.4 第32位

目前研究人员已鉴定出大肠杆菌的部分 tRNA 上存在第 32 位的 2'-O-甲基化修饰, 由 SPOUT 家族的 TrmJ 负责催化完成^[60-62]。部分原核生物, 如运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*, *Z. mobilis*)^[63] 和铜绿假单胞杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*)^[64] 中也存在 tRNA 第 32 位的 2'-O-甲基转移酶 TrmJ。其中, 铜绿假单胞杆菌中的 TrmJ 可以催化 tRNA 底物形成 Cm32、Um32 和 Am32 修饰^[64], 而古细菌酸热硫化叶菌 (*Sulfolobus acidocaldarius*, *S. acidocaldarius*) 中的 TrmJ 只能催化 tRNA 第 32 位的 Cm 修饰^[61]。也有报道在其他古细菌, 如嗜酸热原体 (*Thermoplasma acidophilum*, *T. acidophilum*) 和沃式嗜盐古菌 (*Halobacterium volcanii*) 的 tRNA 上鉴定到 Cm32 修饰的存在^[65-66], 但对应的 2'-O-甲基转移酶未知。

在酿酒酵母和裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*, *S. pombe*) 中, 三种 tRNA 底物第 32 位和 34 位的 2'-O-甲基化修饰是由甲基转移酶 Trm7 分别和辅助蛋白质 Trm732 和 Trm734 一起催化完成^[25,67-68], 其中 Trm7 是负责大肠杆菌的 23S 核糖体 RNA 第 2552 位 Um 修饰的 2'-O-甲基转移酶 FtsJ/RrmJ 的同源物^[67,69-71]。晶体学结构显示 FtsJ/RrmJ 具有 Rosemann 折叠, 属于 I 类甲基转移酶^[69], 但 Trm7 的结构信息和催化机制仍未知。

近期研究发现, tRNA 第 32 位的 2'-O-甲基化修饰及其修饰酶与细胞应激、蛋白质合成和代谢以及疾病的发生密切相关。铜绿假单胞杆菌中的 *trmj* 的缺失引起体内过氧化氢酶活力降低, 导致菌体对

过氧化氢刺激敏感, 说明 TrmJ 参与细胞内的氧化应激反应^[64]; 酿酒酵母中 tRNA^{Phe} 的 Cm32 和 Gm34 的修饰缺失会影响 tRNA 第 37 位从 1-甲基鸟苷酸 (1-methylguanosine, m¹G) 到三环修饰核苷衍生物 yW (wybutosine) 的生成^[25,68,72]。

trm7 缺失的酿酒酵母表现出生长速率下降, 蛋白质翻译受损^[25,67-68], 并且 *trm7* 缺失的裂殖酵母比酿酒酵母具有更严重的生长缺陷^[25,68]。在 *trm7* 缺失的酿酒酵母和裂殖酵母中, 细胞质 tRNA^{Phe} 的氨基酰化水平下降, 进而激活酵母体内完整的通用氨基酸控制应答 (a robust general amino acid control response, GAAC), 说明 Trm7 与细胞的生长代谢密切相关^[73]。*trm7* 在人基因组中的同源基因是位于 X 染色体上的 *ftsj1*。在 *trm7* 缺失的酿酒酵母中转入 *ftsj1*, 可以回补 tRNA^{Phe} 第 32 位和 34 位的修饰缺失和酵母的生长缺陷, 提示 FTSJ1 可能是人胞质 tRNA 第 32 位和 34 位的 2'-O-甲基转移酶, 但目前没有关于 FTSJ1 直接催化 tRNA 底物 2'-O-甲基化修饰的报道^[68,72]。在缺失 *ftsj1* 的患者细胞中, 细胞质 tRNA^{Phe} 第 32 位和 34 位的 2'-O-甲基化修饰缺失, 并且影响 tRNA 第 37 位从 m¹G 到更复杂的三环修饰核苷衍生物 o2yW (peroxywybutosine) 的生成^[72]。*ftsj1* 的缺失或突变可引起非综合征型 X 染色体连锁智力障碍 (nonsyndromic X-linked intellectual disability, NSXLID), 但目前致病机理还有待阐明^[27,72]。近期文献报道, FTSJ1 与牛痘病毒在人细胞中的感染复制相关^[30,74]。

1.5 第34位和第39位

大肠杆菌和嗜热栖热菌中的 tRNA^{Leu}(CAA) 和 tRNA^{Leu}(UAA) 的 Cm34 和 Um34 修饰由 SPOUT 家族的 TrmL 负责催化完成^[75-78]。而沃氏嗜盐富饶菌中延伸 tRNA^{Met} 的前体 (pre-tRNA^{Met}) 上的 Cm34 修饰是由 C/D box RNA : 小 RNA tMet (small RNA for tRNA^{Met}, sR-tMet) 介导的 RNPs 复合物催化完成^[79]。在沃氏嗜盐富饶菌和深海嗜热菌 (*Pyrococcus abyssi*, *P. abyssi*) 中, tRNA^{Trp} 的前体 (pre-tRNA^{Trp}) 的 Cm34 和 Um39 修饰是通过自身的内含子形成 C/D box RNA 来介导的 RNPs 催化完成^[19,80-82]。值得注意的是, 目前报道的含有内含子的古细菌 tRNA 中, 只有 pre-tRNA^{Trp} 的内含子显示有 C/D box RNA 结构。然而, 并非所有古细菌的 pre-tRNA^{Trp} 均显示特征 C/D box RNA 结构。詹氏甲烷球菌 (*Methanococcus jannaschii*, *M. jannaschii*) 和嗜热泉生古细菌 (*Aeropyrum pernix*, *A. pernix*) 中的 pre-tRNA^{Trp} 内含子较短^[83], 而

耐超高温热棒菌 (*Pyrobaculum aerophilum*, *P. aerophilum*) 中的 pre-tRNA^{Trp} 不含有内含子^[84]。此外, 在酸热硫化叶菌中, 研究人员也发现其 tRNA^{Gln}(UUG) 的 Um34 修饰是通过 C/D box RNA : 小 RNA 14 (small RNA 14, sR14) 介导的 RNPs 复合物催化完成^[44]。而在酿酒酵母和裂殖酵母中, 三种 tRNA 底物第 34 位的 2'-O-甲基化修饰是由甲基转移酶 Trm7 和辅助蛋白质 Trm734 一起催化完成^[25,67-68]。

tRNA 第 34 位修饰对反密码子与 mRNA 密码子的精确识别具有重要作用^[85]。大肠杆菌中 *trm1* 缺失将导致 tRNA 反密码子与 mRNA 上密码子的相互配对识别效率降低, 进而影响细胞从静息期到生长期的恢复过程^[75]。酿酒酵母 *trm7* 和人基因组中的同源基因 *ftsj1* 的潜在生物学功能在 tRNA 第 32 位的 2'-O-甲基化修饰部分已经进行了介绍。此外, 与 Gm18 修饰具有类似的免疫效应, 酿酒酵母中的 tRNA^{Phe} 的 Gm34 修饰可以逃脱免疫细胞的应答反应, 提示 Gm34 可能参与细胞免疫应答^[49]。

1.6 第44位

Um44 广泛存在于真核生物细胞质 tRNA 的第 44 位^[86]。而在酿酒酵母中, Um44 只存在于 tRNA^{Ser}(CGA)、tRNA^{Ser}(UGA)、tRNA^{Ser}(AGA) 和 tRNA^{Ser}(GCU) 中, 由 Trm44 负责催化完成^[24,87] (表 2)。在 33 °C 和 37 °C 培养时, *trm44* 与编码 tRNA^{Leu} 和 tRNA^{Ser} 的乙酰基转移酶的基因 *tan1* 共同缺失的酿酒酵母, 比单独缺失 *tan1* 的酿酒酵母表现出更严重的生长缺陷。在缺失 *trm44* 和 *tan1* 的酿酒酵母中转入外源的 tRNA^{Ser}(CGA) 和 tRNA^{Ser}(UGA) 可以回补其生长缺陷, 说明 Um44 对 tRNA^{Ser}(CGA) 和 tRNA^{Ser}(UGA) 的稳定性具有重要作用^[24,87]。

1.7 第54位

兔子 (*Oryctolagus cuniculus*, *O. cuniculus*) 肝脏中的 tRNA^{Lys}₃ 第 54 位存在 m⁵Um (5,2'-O-dimethyluridine) 修饰, 即 2'-O-甲基胸腺嘧啶 (2'-O-methylthymine, Tm) 修饰, 但对应的 2'-O-甲基转移酶未知^[88]。Tm54 修饰可抑制哺乳动物细胞中的 tRNA^{Lys}₃ 引起的自身免疫刺激^[89]。

1.8 第56位

目前仅在古细菌中鉴定到 tRNA 的 Cm56 修饰。约 30 年前, 科学家已经在激烈火球菌^[34]、嗜酸热原体^[65]和沃氏嗜盐古菌^[66]中的 tRNA 检测到 Cm56 修饰。在深海嗜热菌^[90]和掘越氏热球菌 (*Pyrococcus horikoshii*, *P. horikoshii*)^[91]中, 由 SPOUT 家族的 Trm56 负责古细菌 tRNA 的 Cm56 修饰。除了耐超高温热

棒菌, 目前测序的古细菌基因组中均存在编码 Trm56 的同源基因。而耐超高温热棒菌中的 tRNA 的 Cm56 修饰是由 C/D box RNA 介导的 RNPs 催化完成的^[90]。

在 tRNA 的三级结构中, Cm56 修饰有利于稳定 G19-Cm56 碱基对, 有利于维持 tRNA 的稳定性^[92]。我们总结了不同物种 tRNA 2'-O-甲基化修饰位点与对应的甲基转移酶, 见表 2。

表2 tRNA 2'-O-甲基化修饰位点与对应的甲基转移酶

修饰位点	物种	tRNAs	甲基转移酶	酶分类	参考文献
Am4和 Cm4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Gly(GCC)、His、Pro	Trm13	未知	[31, 33]
Am4	<i>Oryza sativa</i>	Gly(GCC)	Trm13	未知	[32]
Am6	<i>Pyrococcus furiosus</i>	未知	未知	未知	[34]
Gm18	<i>E. coli</i>	Gln(UUG)、Gln(CUG)、Ile(CAU)、Leu(CGA)、Leu(GAG)、Leu(UAA)、Leu(CAA)、Leu(UAG)、Met(CAU)、Ser(UGA)、Ser(CGA)、Ser(GGA)、Tyr(GUA)	TrmH	IV	[43]
	<i>Thermus thermophilus</i>	所有的 <i>T. thermophilus</i> II tRNA	TrmH	IV	[35-40]
	<i>Aquifex aeolicus</i>	Ala(UGC)、Ala(GGC)、Phe(GAA)、Gly(UCC)、Gly(GCC)、His(GUG)、Lys(UUU)、Lys(CUU)、Met(CAU)、Asn(GUU)、Pro(UGG)、Pro(CGG)、Pro(GGG)、Gln(UUG)、Thr(UGU)、Thr(GGU)、Val(GAC)、Val(UAC)、Trp(CCA)、Leu(CAA)、Leu(UAA)、Leu(CAG)、Leu(CUA)	TrmH	IV	[41-42]
	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Gln(CUG)	C/D box RNA (sR11) 介导的RNPs	I	[44]
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	His(GUG)、Leu(UAG)、Leu(CAA)、Leu(UAA)、Ser(CGA)、Ser(UGA)、Ser(AGA)、Ser(GCU)、Trp(CCA)、Tyr(GUA)	Trm3	IV	[45]
Cm32和 Um32	<i>Escherichia coli</i>	Ser(UGA)、Gln(CUG)、Gln(UUG)、Trp(CCA)、起始Met(CAU)	TrmJ	IV	[60-62]
32	<i>Zymomonas mobilis</i>	未知	TrmJ	IV	[63]
Cm32	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	未知	TrmJ	IV	[61]
	<i>Thermoplasma acidophilum</i>	延伸Met(CAU)、起始Met(CAU)	未知	未知	[65]
	<i>Halobacterium volcanii</i>	Lys(CUU)、Lys(UUU)、Trp(CCA)、Tyr(GUA)	未知	未知	[66]
Am32、 Cm32和 Um32	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Met(CAU)、Trp(CCA)、Gln(UUG)、Pro(UGG)、Pro(CGG)、Pro(GGG)、His(GUG)	TrmJ	IV	[64]
Cm32	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 和 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Trp(CCA)、Leu(UAA)、Phe(GAA)	Trm7-Trm732	未知	[25, 67-68]
Cm34和 Um34	<i>E. coli</i>	Leu(CAA)、Leu(UAA)	TrmL	IV	[75-77]
Cm34和 Um34	<i>Thermus thermophilus</i>	Leu(CAA)、Leu(UAA)	TrmL	IV	[78]
Cm34	<i>Haloferax volcanii</i>	pre-tRNA ^{Met}	C/D box RNA (sR-tMet)介导的RNPs	I	[79]

表2 续表

修饰位点	物种	tRNAs	甲基转移酶	酶分类	参考文献
Cm34和 Um39	<i>Haloferax volcanii</i> 和 <i>Pyrococcus abyssi</i>	pre-tRNA ^{Trp}	C/D box RNA (内含子)介导的RNPs	I	[19, 22-23, 80-82]
Um34	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	Gln(UUG)	C/D box RNA (sR14)介导的RNPs	I	[44]
Cm34、 Gm34和 Um34	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 和 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Trp(CCA)、Leu(UAA)、Phe(GAA)	Trm7-Trm734	未知	[25, 67-68]
Um44	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ser(CGA)、Ser(UGA)、Ser(AGA)、 Ser(GCU)	Trm44	未知	[24, 87]
Tm54	<i>Oryctolagus cuniculus</i> liver	Lys	未知	未知	[88]
Cm56	<i>Pyrococcus furiosus</i>	未知	Trm56	IV	[34]
	<i>Thermoplasma acidophilum</i>	延伸Met(CAU)、起始Met(CAU)、 Leu(UAG)	未知	未知	[65, 93-94]
	<i>Halobacterium volcanii</i>	所有的 <i>Halobacterium volcanii</i> tRNA	未知	未知	[66]
	<i>Pyrococcus abyssi</i>	未知	Trm56	IV	[90]
	<i>Pyrobaculum aerophilum</i>	未知	C/D box RNA 介导的RNPs	I	[90]
	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	未知	Trm56	IV	[91]

2 小结与展望

tRNA 作为生物体内蛋白质合成必不可少的大分子，其上存在的修饰关乎着 tRNA 本身结构的稳定以及密码子与反密码子配对的精确性，继而对蛋白质的生物合成具有重要影响。2'-O-甲基化修饰是 tRNA 所有修饰中最常见的一类，并且广泛存在于古细菌、原核生物和真核生物的 tRNA 上。目前已鉴定的 tRNA 2'-O-甲基化修饰位点是第4位、6位、18位、32位、34位、39位、44位、54位和56位。tRNA 不同位点的 2'-O-甲基化修饰具有不同的生物学功能，并且同一位点但不同物种的 tRNA 2'-O-甲基化修饰也具有不同的生物学功能。

已知的 tRNA 2'-O-甲基转移酶是属于依赖 SAM 的甲基转移酶 I 类或 IV 类。目前，对于古细菌和原核生物的 tRNA 2'-O-甲基转移酶的晶体结构和底物识别机制研究较多，而针对酿酒酵母和高等真核生物的 tRNA 2'-O-甲基转移酶的研究较少。然而，人细胞质 tRNA 2'-O-甲基转移酶与细胞生长代谢、免疫应答、病毒感染和疾病密切相关，如编码潜在的 tRNA 第32位和34位的 2'-O-甲基转移酶的 *ftsJ1* 的缺失或突变可引起非综合征型 X 染色体连锁智力障碍^[27,72]；TrmH 在人细胞质中的同源物 TARBP1 已经成为治疗 HIV-1 感染的新靶点^[53-55]，

并与丙型肝炎病毒感染^[58]和一系列癌症^[28,59]的发生密切相关。因此，深入研究高等真核生物 tRNA 2'-O-甲基转移酶，有利于加深对 tRNA 2'-O-甲基化修饰的认识，并揭示高等真核生物 tRNA 2'-O-甲基转移酶的催化机制及其致病机理。

[参 考 文 献]

- [1] Cantara WA, Crain PF, Rozenski J, et al. The RNA modification database, RNAMDB: 2011 update. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: D195-201
- [2] Boccaletto P, Machnicka MA, Purta E, et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: D303-7
- [3] Hurwitz J, Gold M, Anders M. The enzymatic methylation of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid. 3. purification of soluble ribonucleic acid-methylating enzymes. *J Biol Chem*, 1964, 239: 3462-73
- [4] Hou YM, Masuda I, Gamper H. Codon-specific translation by m¹G37 methylation of tRNA. *Front Genet*, 2018, 9: 713
- [5] Oerum S, Degut C, Barraud P, et al. m¹A post-transcriptional modification in tRNAs. *Biomolecules*, 2017, 7: 20
- [6] Lorenz C, Lunse CE, Morl M. tRNA modifications: impact on structure and thermal adaptation. *Biomolecules*, 2017, 7: 35
- [7] Koh CS, Sarin LP. Transfer RNA modification and infection -- implications for pathogenicity and host responses. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1861: 419-32

- [8] Dewe JM, Fuller BL, Lentini JM, et al. TRMT1-catalyzed tRNA modifications are required for redox homeostasis to ensure proper cellular proliferation and oxidative stress survival. *Mol Cell Biol*, 2017, 37: e00214-17
- [9] Soprano AS, Smetana JHC, Benedetti CE. Regulation of tRNA biogenesis in plants and its link to plant growth and response to pathogens. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1861: 344-53
- [10] Abedini SS, Kahrizi K, de Pouplana LR, et al. tRNA methyltransferase defects and intellectual disability. *Arch Iran Med*, 2018, 21: 478-85
- [11] Wei FY, Tomizawa K. tRNA modifications and islet function. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20: 20-7
- [12] Khosronezhad N, Colagar AH, Jorsarayi SG. T26248G-transversion mutation in exon7 of the putative methyltransferase Nsun7 gene causes a change in protein folding associated with reduced sperm motility in asthenospermic men. *Reprod Fertil Dev*, 2015, 27: 471-80
- [13] van Haute L, Dietmann S, Kremer L, et al. Deficient methylation and formylation of mt-tRNA^{Met} wobble cytosine in a patient carrying mutations in NSUN3. *Nat Commun*, 2016, 7: 12039
- [14] Morscher RJ, Ducker GS, Li SH, et al. Mitochondrial translation requires folate-dependent tRNA methylation. *Nature*, 2018, 554: 128-32
- [15] Lin H, Miyauchi K, Harada T, et al. CO₂-sensitive tRNA modification associated with human mitochondrial disease. *Nat Commun*, 2018, 9: 1875
- [16] Hori H. Methylated nucleosides in tRNA and tRNA methyltransferases. *Front Genet*, 2014, 5: 144
- [17] El Yacoubi B, Bailly M, de Crécy-Lagard V. Biosynthesis and function of posttranscriptional modifications of transfer RNAs. *Annu Rev Genet*, 2012, 46: 69-95
- [18] Schubert HL, Blumenthal RM, Cheng X. Many paths to methyltransfer: a chronicle of convergence. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28: 329-35
- [19] Clouet-d'Orval B, Gaspin C, Mougin A. Two different mechanisms for tRNA ribose methylation in archaea: a short survey. *Biochimie*, 2005, 87: 889-95
- [20] Lui LM, Uzilov AV, Bernick DL, et al. Methylation guide RNA evolution in archaea: structure, function and genomic organization of 110 C/D box sRNA families across six *Pyrobaculum* species. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 5678-91
- [21] Omer AD, Ziesche S, Ebhardt H, et al. *In vitro* reconstitution and activity of a C/D box methylation guide ribonucleoprotein complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 5289-94
- [22] Ye K, Jia R, Lin J, et al. Structural organization of box C/D RNA-guided RNA methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 13808-13
- [23] Lin J, Lai S, Jia R, et al. Structural basis for site-specific ribose methylation by box C/D RNA protein complexes. *Nature*, 2011, 469: 559-63
- [24] Kotelawala L, Grayhack EJ, Phizicky EM. Identification of yeast tRNA Um₄₄ 2'-O-methyltransferase (Trm44) and demonstration of a Trm44 role in sustaining levels of specific tRNA^{Ser} species. *RNA*, 2008, 14: 158-69
- [25] Guy MP, Podyma BM, Preston MA, et al. Yeast Trm7 interacts with distinct proteins for critical modifications of the tRNA^{Phe} anticodon loop. *RNA*, 2012, 18: 1921-33
- [26] Jockel S, Nees G, Sommer R, et al. The 2'-O-methylation status of a single guanosine controls transfer RNA-mediated Toll-like receptor 7 activation or inhibition. *J Exp Med*, 2012, 209: 235-41
- [27] Freude K, Hoffmann K, Jensen LR, et al. Mutations in the *FTSJ1* gene coding for a novel S-adenosylmethionine-binding protein cause nonsyndromic X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet*, 2004, 75: 305-9
- [28] Ye J, Wang J, Zhang N, et al. Expression of TARBP1 protein in human non-small-cell lung cancer and its prognostic significance. *Oncol Lett*, 2018, 15: 7182-90
- [29] Ringard M, Marchand V, Decroly E, et al. FTSJ3 is an RNA 2'-O-methyltransferase recruited by HIV to avoid innate immune sensing. *Nature*, 2019, 565: 500-4
- [30] Sivan G, Glushakow-Smith SG, Katsafanas GC, et al. Human host range restriction of the vaccinia virus C7/K1 double deletion mutant is mediated by an atypical mode of translation inhibition. *J Virol*, 2018, 92: e01329-18
- [31] Wilkinson ML, Cray SM, Jackman JE, et al. The 2'-O-methyltransferase responsible for modification of yeast tRNA at position 4. *RNA*, 2007, 13: 404-13
- [32] Wang Y, Li D, Gao J, et al. The 2'-O-methyladenosine nucleoside modification gene *OsTRM13* positively regulates salt stress tolerance in rice. *J Exp Bot*, 2017, 68: 1479-91
- [33] Tkaczuk KL. Trm13p, the tRNA:Xm4 modification enzyme from *Saccharomyces cerevisiae* is a member of the Rossmann-fold MTase superfamily: prediction of structure and active site. *J Mol Model*, 2010, 16: 599-606
- [34] Constantinesco F, Motorin Y, Grosjean H. Transfer RNA modification enzymes from *Pyrococcus furiosus*: detection of the enzymatic activities *in vitro*. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27: 1308-15
- [35] Hori H, Suzuki T, Sugawara K, et al. Identification and characterization of tRNA (Gm18) methyltransferase from *Thermus thermophilus* HB8: domain structure and conserved amino acid sequence motifs. *Genes Cells*, 2002, 7: 259-72
- [36] Nureki O, Watanabe K, Fukai S, et al. Deep knot structure for construction of active site and cofactor binding site of tRNA modification enzyme. *Structure*, 2004, 12: 593-602
- [37] Watanabe K, Nureki O, Fukai S, et al. Structural change of tRNA (Gm18) methyltransferase by binding of methyl donor analogues. *Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)*, 2005, 49: 301-2
- [38] Hori H, Yamazaki N, Matsumoto T, et al. Substrate recognition of tRNA (Guanosine-2'-)-methyltransferase from *Thermus thermophilus* HB27. *J Biol Chem*, 1998, 273: 25721-7
- [39] Watanabe K, Nureki O, Fukai S, et al. Roles of conserved amino acid sequence motifs in the SpoU (TrmH) RNA methyltransferase family. *J Biol Chem*, 2005, 280: 10368-77

- [40] Watanabe K, Nureki O, Fukai S, et al. Functional categorization of the conserved basic amino acid residues in TrmH (tRNA (Gm18) methyltransferase) enzymes. *J Biol Chem*, 2006, 281: 34630-9
- [41] Hori H, Kubota S, Watanabe K, et al. *Aquifex aeolicus* tRNA (Gm18) methyltransferase has unique substrate specificity. *J Biol Chem*, 2003, 278: 25081-90
- [42] Pleshe E, Truesdell J, Batey RT. Structure of a class II TrmH tRNA-modifying enzyme from *Aquifex aeolicus*. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2005, 61: 722-8
- [43] Persson BC, Jager G, Gustafsson C. The *spoU* gene of *Escherichia coli*, the fourth gene of the *spoT* operon, is essential for tRNA (Gm18) 2'-O-methyltransferase activity. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 4093-7
- [44] Ziesche SM, Omer AD, Dennis PP. RNA-guided nucleotide modification of ribosomal and non-ribosomal RNAs in archaea. *Mol Microbiol*, 2004, 54: 980-93
- [45] Cavaille J, Chetouani F, Bachellerie JP. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* YDL112w ORF encodes the putative 2'-O-ribose methyltransferase catalyzing the formation of Gm18 in tRNAs. *RNA*, 1999, 5: 66-81
- [46] Urbonavicius J, Durand JM, Bjork GR. Three modifications in the D and T arms of tRNA influence translation in *Escherichia coli* and expression of virulence genes in *Shigella flexneri*. *J Bacteriol*, 2002, 184: 5348-57
- [47] Tomikawa C, Yokogawa T, Kanai T, et al. N⁷-Methylguanine at position 46 (m⁷G46) in tRNA from *Thermus thermophilus* is required for cell viability at high temperatures through a tRNA modification network. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 942-57
- [48] Horie N, Hara-Yokoyama M, Yokoyama S, et al. Two tRNA^{Leu}₁ species from an extreme thermophile, *Thermus thermophilus* HB8: effect of 2-thiolation of ribothymidine on the thermostability of tRNA. *Biochemistry*, 1985, 24: 5711-5
- [49] Gehrig S, Eberle ME, Botschen F, et al. Identification of modifications in microbial, native tRNA that suppress immunostimulatory activity. *J Exp Med*, 2012, 209: 225-33
- [50] Wu F, Garcia J, Sigman D, et al. *tat* regulates binding of the human immunodeficiency virus *trans*-activating region RNA loop-binding protein TRP-185. *Genes Dev*, 1991, 5: 2128-40
- [51] Garcia-Martinez LF, Mavankal G, Peters P, et al. Tat functions to stimulate the elongation properties of transcription complexes paused by the duplicated TAR RNA element of human immunodeficiency virus 2. *J Mol Biol*, 1995, 254: 350-63
- [52] Wu-Baer F, Lane WS, Gaynor RB. The cellular factor TRP-185 regulates RNA polymerase II binding to HIV-1 TAR RNA. *EMBO J*, 1995, 14: 5995-6009
- [53] Christensen HS, Daher A, Soye KJ, et al. Small interfering RNAs against the TAR RNA binding protein, TRBP, a Dicer cofactor, inhibit human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat expression and viral production. *J Virol*, 2007, 81: 5121-31
- [54] Sanghvi VR, Steel LF. The cellular TAR RNA binding protein, TRBP, promotes HIV-1 replication primarily by inhibiting the activation of double-stranded RNA-dependent kinase PKR. *J Virol*, 2011, 85: 12614-21
- [55] Eekels JJ, Geerts D, Jeeninga RE, et al. Long-term inhibition of HIV-1 replication with RNA interference against cellular co-factors. *Antiviral Res*, 2011, 89: 43-53
- [56] Wu H, Min J, Zeng H, et al. Crystal structure of the methyltransferase domain of human TARBP1. *Proteins*, 2008, 72: 519-25
- [57] Chi YH, Semmes OJ, Jeang KT. A proteomic study of TAR-RNA binding protein (TRBP)-associated factors. *Cell Biosci*, 2011, 1: 9
- [58] Zhang C, Huys A, Thibault PA, et al. Requirements for human Dicer and TRBP in microRNA-122 regulation of HCV translation and RNA abundance. *Virology*, 2012, 433: 479-88
- [59] Ye J, Wang J, Tan L, et al. Expression of protein TARBP1 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 9089-96
- [60] Purta E, van Vliet F, Tkaczuk KL, et al. The *yfhQ* gene of *Escherichia coli* encodes a tRNA:Cm32/Um32 methyltransferase. *BMC Mol Biol*, 2006, 7: 23
- [61] Somme J, Van Laer B, Roovers M, et al. Characterization of two homologous 2'-O-methyltransferases showing different specificities for their tRNA substrates. *RNA*, 2014, 20: 1257-71
- [62] Liu RJ, Long T, Zhou M, et al. tRNA recognition by a bacterial tRNA Xm32 modification enzyme from the SPOUT methyltransferase superfamily. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: 7489-503
- [63] Gu DH, Park MY, Kim JS. An asymmetric dimeric structure of TrmJ tRNA methyltransferase from *Zymomonas mobilis* with a flexible C-terminal dimer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 488: 407-12
- [64] Jaroensuk J, Atichartpongkul S, Chionh YH, et al. Methylation at position 32 of tRNA catalyzed by TrmJ alters oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: 10834-48
- [65] Walker RT. Mycoplasma evolution: a review of the use of ribosomal and transfer RNA nucleotide sequences in the determination of phylogenetic relationships. *Yale J Biol Med*, 1983, 56: 367-72
- [66] Gupta R. *Halobacterium volcanii* tRNAs. Identification of 41 tRNAs covering all amino acids, and the sequences of 33 class I tRNAs. *J Biol Chem*, 1984, 259: 9461-71
- [67] Pintard L, Lecoite F, Bujnicki JM, et al. Trm7p catalyses the formation of two 2'-O-methylriboses in yeast tRNA anticodon loop. *EMBO J*, 2002, 21: 1811-20
- [68] Guy MP, Phizicky EM. Conservation of an intricate circuit for crucial modifications of the tRNA^{Phe} anticodon loop in eukaryotes. *RNA*, 2015, 21: 61-74
- [69] Bugl H, Fauman EB, Staker BL, et al. RNA methylation under heat shock control. *Mol Cell*, 2000, 6: 349-60
- [70] Caldas T, Binet E, Bouloc P, et al. The FtsJ/RrmJ heat shock protein of *Escherichia coli* is a 23S ribosomal RNA methyltransferase. *J Biol Chem*, 2000, 275: 16414-9

- [71] Caldas T, Binet E, Bouloc P, et al. Translational defects of *Escherichia coli* mutants deficient in the Um₂₅₅₂ 23S ribosomal RNA methyltransferase RrmJ/FTSJ. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 271: 714-8
- [72] Guy MP, Shaw M, Weiner CL, et al. Defects in tRNA anticodon loop 2'-O-methylation are implicated in nonsyndromic X-linked intellectual disability due to mutations in FTSJ1. *Hum Mutat*, 2015, 36: 1176-87
- [73] Han L, Guy MP, Kon Y, et al. Lack of 2'-O-methylation in the tRNA anticodon loop of two phylogenetically distant yeast species activates the general amino acid control pathway. *PLoS Genet*, 2018, 14: e1007288
- [74] Sivan G, Ormanoglu P, Buehler EC, et al. Identification of restriction factors by human genome-wide RNA interference screening of viral host range mutants exemplified by discovery of SAMD9 and WDR6 as inhibitors of the Vaccinia Virus K1L C7L Mutant. *MBio*, 2015, 6: e01122
- [75] Benitez-Paez A, Villarroya M, Douthwaite S, et al. YibK is the 2'-O-methyltransferase TrmL that modifies the wobble nucleotide in *Escherichia coli* tRNA^{Leu} isoacceptors. *RNA*, 2010, 16: 2131-43
- [76] Liu RJ, Zhou M, Fang ZP, et al. The tRNA recognition mechanism of the minimalist SPOUT methyltransferase, TrmL. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 7828-42
- [77] Zhou M, Long T, Fang ZP, et al. Identification of determinants for tRNA substrate recognition by *Escherichia coli* C/U34 2'-O-methyltransferase. *RNA Biol*, 2015, 12: 900-11
- [78] Pang P, Deng X, Wang Z, et al. Structural and biochemical insights into the 2'-O-methylation of pyrimidines 34 in tRNA. *FEBS J*, 2017, 284: 2251-63
- [79] Joardar A, Malliahgari SR, Skariah G, et al. 2'-O-methylation of the wobble residue of elongator pre-tRNA^{Met} in *Haloferax volcanii* is guided by a box C/D RNA containing unique features. *RNA Biol*, 2011, 8: 782-91
- [80] Clouet d'Orval B, Bortolin ML, Gaspin C, et al. Box C/D RNA guides for the ribose methylation of archaeal tRNAs. The tRNA^{Trp} intron guides the formation of two ribose-methylated nucleosides in the mature tRNA^{Trp}. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29: 4518-29
- [81] Bortolin ML, Bachellerie JP, Clouet-d'Orval B. *In vitro* RNP assembly and methylation guide activity of an unusual box C/D RNA, *cis*-acting archaeal pre-tRNA^{Trp}. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 6524-35
- [82] Singh SK, Gurha P, Tran EJ, et al. Sequential 2'-O-methylation of archaeal pre-tRNA^{Trp} nucleotides is guided by the intron-encoded but *trans*-acting box C/D ribonucleoprotein of pre-tRNA. *J Biol Chem*, 2004, 279: 47661-71
- [83] Marck C, Grosjean H. Identification of BHB splicing motifs in intron-containing tRNAs from 18 archaea: evolutionary implications. *RNA*, 2003, 9: 1516-31
- [84] Marck C, Grosjean H. tRNomics: analysis of tRNA genes from 50 genomes of eukarya, archaea, and bacteria reveals anticodon-sparing strategies and domain-specific features. *RNA*, 2002, 8: 1189-232
- [85] Agris PF. Bringing order to translation: the contributions of transfer RNA anticodon-domain modifications. *EMBO Rep*, 2008, 9: 629-35
- [86] Chan PP, Lowe TM. GtRNAdb 2.0: an expanded database of transfer RNA genes identified in complete and draft genomes. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: D184-9
- [87] Dewe JM, Whipple JM, Chernyakov I, et al. The yeast rapid tRNA decay pathway competes with elongation factor 1A for substrate tRNAs and acts on tRNAs lacking one or more of several modifications. *RNA*, 2012, 18: 1886-96
- [88] Gross HJ, Simsek M, Raba M, et al. 2'-O-methyl ribothymidine: a component of rabbit liver lysine transfer RNA. *Nucleic Acids Res*, 1974, 1: 35-43
- [89] Keller P, Freund I, Marchand V, et al. Double methylation of tRNA-U54 to 2'-O-methylthymidine (Tm) synergistically decreases immune response by Toll-like receptor 7. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 9764-75
- [90] Renalier MH, Joseph N, Gaspin C, et al. The Cm56 tRNA modification in archaea is catalyzed either by a specific 2'-O-methylase, or a C/D sRNP. *RNA*, 2005, 11: 1051-63
- [91] Kuratani M, Bessho Y, Nishimoto M, et al. Crystal structure and mutational study of a unique SpoU family archaeal methylase that forms 2'-O-methylcytidine at position 56 of tRNA. *J Mol Biol*, 2008, 375: 1064-75
- [92] Kawai G, Yamamoto Y, Kamimura T, et al. Conformational rigidity of specific pyrimidine residues in tRNA arises from posttranscriptional modifications that enhance steric interaction between the base and the 2'-hydroxyl group. *Biochemistry*, 1992, 31: 1040-6
- [93] Tomikawa C, Ohira T, Inoue Y, et al. Distinct tRNA modifications in the thermo-acidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*. *FEBS Lett*, 2013, 587: 3575-80
- [94] Kawamura T, Anraku R, Hasegawa T, et al. Transfer RNA methyltransferases from *Thermoplasma acidophilum*, a thermoacidophilic archaeon. *Int J Mol Sci*, 2014, 16: 91-113